

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2025.04.0322

论著

# 基于生物信息学分析法洛三联症 miRNA 的免疫调控机制

王凡, 赵倩

(天津医科大学基础医学院细胞生物学系, 天津 300070)

**摘要** 目的: 通过生物信息学方法, 构建法洛三联症(TOF)免疫相关的 miRNA-mRNA 调控网络, 探究 miRNA 对免疫基因的调控作用。方法: 利用 Gene Expression Omnibus (GEO) 数据库中与 TOF 相关的 mRNA 和 miRNA 数据进行分析, 结合差异分析、免疫浸润分析及靶基因预测, 整合免疫相关基因(IRGs), 筛选 miRNA-mRNA 调控对。通过外部验证集筛选高 AUC 得分基因, 并构建转录因子(TF)-miRNA-mRNA 调控网络。结果: 差异分析得到 1 875 个差异表达基因(DEGs)和 27 个差异表达 miRNAs (DEmiRNAs)。其中浆细胞、杀伤性 T 细胞、单核细胞以及静止肥大细胞等免疫细胞组分在患病样本中显著高于正常样本, T 细胞滤泡辅助细胞、休眠自然杀伤细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、嗜酸性粒细胞、活肥大细胞等免疫细胞组分在患病样本中显著低于正常样本。整合 DEGs 与 DEmiRNAs, 通过外部验证集筛选得到 16 个关键 mRNA 和 16 个 miRNA, 预测得到 4 个调控关键 miRNA 的 TF, 并构建 36 节点(node)与 32 条边(edge)的免疫相关的 TF-miRNA-mRNA 网络。基于调控网络的 MCC 得分筛选出 4 个与免疫相关的核心基因与 5 个核心 miRNA。结论: 成功构建了 TOF 的免疫相关 TF-miRNA-mRNA 调控网络, 鉴定出 5 个核心调控 miRNA 及其靶向的 4 个免疫相关核心基因, 揭示了 miRNA 介导的免疫调控在 TOF 中的潜在作用。

**关键词** 法洛三联症; PPI 交互网络; 免疫调控

中图分类号 R541.1

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2025)04-0322-07

## Bioinformatics analysis of the immunoregulatory mechanisms of microRNA in tetralogy of Fallot

WANG Fan, ZHAO Qian

(Department of Cell Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

**Abstract Objective:** To construct an immune-related miRNA-mRNA regulatory network in tetralogy of Fallot (TOF) using bioinformatics approaches and investigate the regulatory roles of miRNAs in immune genes. **Methods:** mRNA and miRNA expression data related to TOF from the Gene Expression Omnibus (GEO) database were analyzed. Differential expression analysis, immune infiltration analysis, and target gene prediction were performed to identify immune-related genes (IRGs) and screen for miRNA-mRNA regulatory pairs. High-AUC genes were selected using an external validation set, and a transcription factor (TF)-miRNA-mRNA regulatory network was constructed. **Results:** A total of 1 875 differentially expressed genes (DEGs) and 27 differentially expressed miRNAs (DEmiRNAs) were identified by differential analysis. Among them, immune cell components such as plasma cells, killer T cells, monocytes, and resting mast cells were significantly enriched in disease samples, while T follicular helper cells, resting NK cells,  $\gamma\delta$  T cells, eosinophils and activated mast cells showed significant depletion compared to normal controls. Integration of DEGs and DEmiRNAs yielded 16 key mRNAs and 16 miRNAs through an external validation set. Four TFs regulating key miRNAs were predicted, forming an immune-related TF-miRNA-mRNA network with 36 nodes and 32 edges. Based on MCC scores of the regulatory network, four core immune-related genes and five core miRNAs were screened. **Conclusion:** An immune-related TF-miRNA-mRNA regulatory network for TOF has been successfully constructed, identifying five core regulatory miRNAs and four immune-related target core genes. These findings highlight the potential role of miRNA-mediated immune regulation in TOF.

**Key words** tetralogy of Fallot; PPI interaction network; immunoregulatory

法洛三联症(TOF)是最常见的先天性心脏病(CHD)之一,每 10 000 例新生儿中约有 3 例 TOF 患儿<sup>[1]</sup>。TOF 的主要特征为室间隔缺损、肺动脉狭窄、右心室肥大以及主动脉骑跨,自然病死率极高<sup>[2]</sup>。目前,外科手术矫治是治疗 TOF 的主要手段,然而,尽管手术能够显著改善患者的血流动力学状态,却

无法有效改善由于长期慢性缺氧和心室压力负荷增加等多种因素导致的免疫系统稳态失衡。这种免疫稳态失衡在术后持续存在,一定程度上导致了心肌纤维化等心脏并发症的发生<sup>[3-4]</sup>。许多研究表明 TOF 患者的心肌细胞中促炎因子显著升高,但炎症上游的调控机制还尚未阐明<sup>[5-7]</sup>。因此,从心脏组织免

疫炎症进展的角度深入研究 TOF 的病理机制,对于改善患者预后以及延长患者生存期具有重要意义。

本研究聚焦 miRNA 在 TOF 中的免疫调控作用,主要基于以下 3 点原因:在 TOF 相关的研究中,已有证据表明多种 miRNA 参与调控心脏发育和病理过程<sup>[8-11]</sup>;miRNA 已在其他人类疾病中被证实在免疫系统上游调控中发挥关键作用<sup>[12-15]</sup>;由于 miRNA 的调控作用更加快速高效,具有作为药物靶点的潜力,已有多种基于 miRNA 的药物进入临床试验<sup>[16]</sup>。基于此,本研究利用 GEO 数据库,通过系统的生物信息学分析构建一个较为全面的免疫相关的 miRNA-mRNA 调控网络,旨在阐明 TOF 的免疫调控机制,为制定新的 TOF 的辅助治疗策略以及患者的预后管理方案提供一定的参考。

## 1 材料与方法

**1.1 测序数据选择** 本研究从 GEO(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)数据库中筛选了与 TOF 相关的 3 个数据集:GSE217771、GSE217772 和 GSE36761。GSE217771 和 GSE217772 数据集用于整合分析,以鉴定 TOF 中免疫相关的差异表达基因(DEGs);GSE36761 数据集作为独立验证集,用于验证 DEGs 的可靠性和一致性。

**1.2 差异表达分析** 采用 DESeq2 对 GSE217771 数据集的 TOF 患者与正常样本的 miRNA 表达数据以及 GSE217772 数据集中的基因表达数据进行系统的差异分析。在分析过程中,以  $\log_2FC > 1$  且  $P.adjust < 0.05$  作为显著性筛选阈值,分别鉴定了 DEGs 和差异 miRNA(DEmiRNAs)。利用 ggplot2 包绘制火山图;采用 pheatmap 包绘制热图。

**1.3 DEGs 富集分析** 使用 R 包 ClusterProfiler(版本:4.10.1)对上调和下调的 DEGs 分别进行基因本体论(GO)与京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。GO 与 KEGG 富集分析均设置  $P.adjust < 0.05$  作为筛选标准。使用 R 包 ggplot2 绘制气泡图以可视化富集分析结果,在 GO 分析中以  $P.adjust$  筛选生物学过程、分子功能、细胞组分各部分最小值前 5 位条目进行展示;在 KEGG 分析中,以  $P.adjust$  筛选最小值前 15 位的通路展示。

**1.4 免疫浸润分析** 采用 CIBERSORT<sup>[17]</sup>算法对 DEGs 进行免疫浸润分析,使用 Kruskal-Wallis 检验对每种免疫细胞成分进行差异显著性分析,并设定  $P < 0.05$  作为显著性阈值。使用 ggplot2 包绘制箱线图和细胞组成成分图,并通过 patchwork 包进行多图组合;利用 pheatmap 包绘制热图。

**1.5 免疫相关的关键基因与 miRNA 筛选** 本研究

基于 MSigDB 数据库(<http://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/>)下载了“Hallmark-inflammatory-response”基因集,该基因集包含 200 个与炎症相关的免疫基因(IRGs)。使用 miRWalk 数据库<sup>[18]</sup>(<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de>)对 DEmiRNAs 进行靶基因预测。在预测过程中,设定结合可能性阈值为 0.95。通过 miRWalk 预测得到的靶基因与 DEGs 以及 IRGs 进行交集分析,并使用 R 包 VennDiagram 绘制韦恩图。从免疫相关的 miRNA-mRNA 对中提取 miRNA 与 mRNA 之间表达趋势相反的互作对,并利用 ggplot2 包绘制饼图以展示其分布特征。使用 R 包 pROC 在外部验证集上进行筛选,并以曲线下面积(AUC)作为评价指标,筛选关键基因并绘制 ROC 曲线以评估其诊断效能,将 AUC 超过 0.6 的基因作为关键基因,与其具备互作关系的 miRNA 作为关键 miRNA。

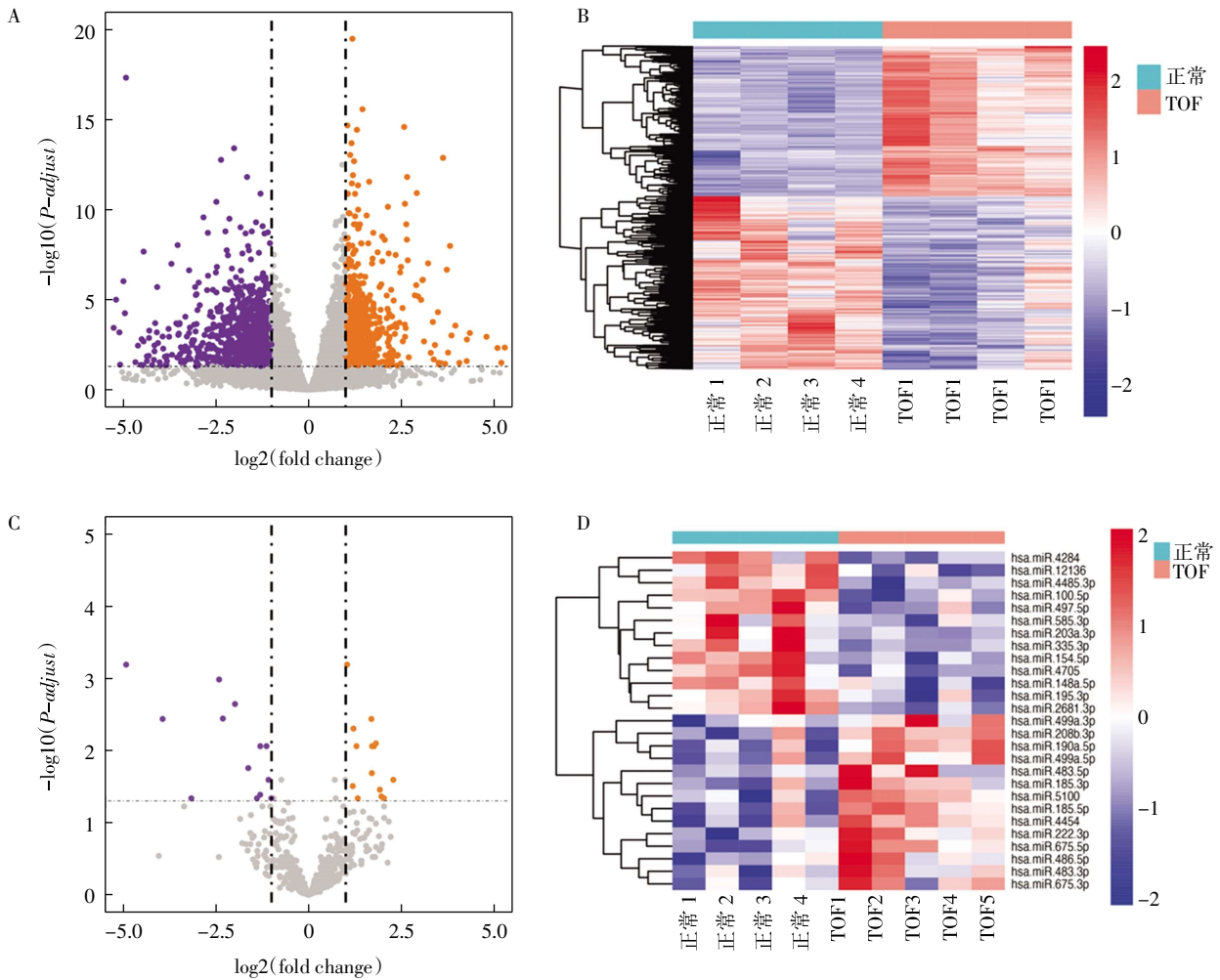
**1.6 蛋白质相互作用网络(PPI)构建** 利用 STRING 数据库<sup>[19]</sup>(<http://string-db.org>)构建 PPI 网络。以总得分  $> 0.4$  为阈值筛选基因,并基于 STRING 数据库分析蛋白质之间的功能关联和相互作用,绘制 PPI 图。

**1.7 免疫相关的转录因子(TF)-miRNA-mRNA 调控网络构建** 利用 TransmiR 数据库探讨 TF 与 miRNA 的调控关系,通过对关键 miRNA 进行预测,在心脏特异性组织中筛选潜在转录因子。使用 Cytoscape 对关键基因、关键 miRNA 与 TF 的作用关系进行可视化,绘制较为完整的免疫相关的 TF-miRNA-mRNA 调控网络图,采用 MCC 算法对网络中的基因与 miRNA 进行排序,筛选出 MCC 评分最高的基因,作为 TOF 中受 miRNA 调控的免疫相关核心基因,筛选出 MCC 评分最高的 miRNA 作为 TOF 中最具备免疫调控作用的核心 miRNA。

## 2 结果

**2.1 差异分析结果** 基于数据集 GSE217772,在正常样本与 TOF 样本之间筛选出了 1 875 个 DEGs,其中 870 个基因在 TOF 中显著上调,1 005 个基因在 TOF 中显著下调(图 1A、1B)。基于数据集 GSE217771,在正常样本与 TOF 样本之间筛选出了 27 个 DEmiRNAs,其中 14 个 miRNA 显著上调,13 个 miRNA 显著下调(图 1C、1D)。

**2.2 差异基因富集结果** GO 分析结果显示,在上调的 DEGs 中,基因主要富集于细胞对氧化应激的反应、葡萄糖代谢过程、抗微生物体液反应以及对 I 型干扰素的反应等功能(图 2A)。下调的 DEGs 则主要富集于细胞外信号调节激酶(ERK)1 和 ERK2 的级联调节、CD4<sup>+</sup>T 细胞、 $\alpha$ - $\beta$ T 细胞分化调控等功



注:TOF:法洛四联症;A:TOF 样本与正常样本差异表达基因火山图,火山图中每一个点表示一个基因,紫色表示在 TOF 中表达下调,橙色表示在 TOF 中表达上调,灰色表示无显著差异;B:TOF 样本与正常样本差异表达基因热图,热图颜色从蓝到红表示表达由低到高;C:TOF 样本与正常样本差异miRNA 火山图,火山图中每一个点表示一个基因,紫色表示在 TOF 中表达下调,橙色表示在 TOF 中表达上调,灰色表示无显著差异;D:TOF 样本与正常样本差异 miRNA 热图,热图颜色从蓝到红表示表达由低到高

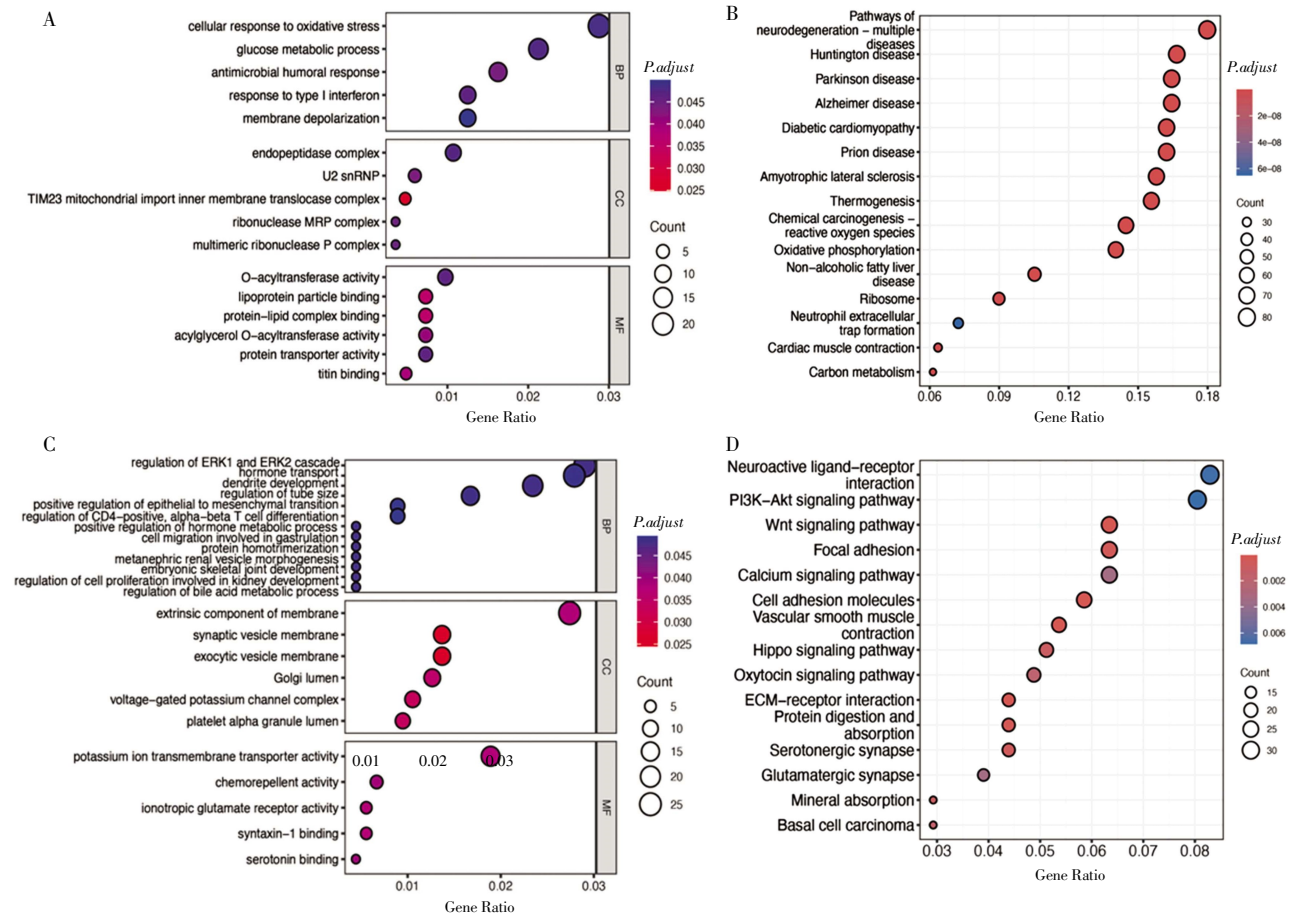
图 1 基因和 miRNA 的差异表达分析  
Fig.1 Differentially expressed analysis of gene and miRNA

能(图 2C)。KEGG 分析结果显示,在上调的 DEGs 中,主要富集于神经退行性变的途径-多重疾病、中性粒细胞胞外陷阱形成、心肌收缩以及氧化磷酸化作用等通路(图 2B)。下调的 DEGs 主要富集于神经活性配体-受体相互作用、磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、Wnt 信号通路、钙信号通路、血管平滑肌收缩以及细胞因子-细胞因子受体相互作用等通路(图 2D)。

2.3 免疫浸润结果 DEGs 免疫浸润分析显示,T 细胞滤泡辅助细胞、休眠自然杀伤细胞、浆细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、嗜酸性粒细胞、杀伤性 T 细胞、单核细胞、静息肥大细胞、活肥大细胞在正常组与患病组之间有显著的差异。其中浆细胞、杀伤性 T 细胞、单核细胞以及静止肥大细胞等免疫细胞组分在患病

样本中显著高于正常样本;T 细胞滤泡辅助细胞、休眠自然杀伤细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、嗜酸性粒细胞、活肥大细胞等免疫细胞组分在患病样本中显著低于正常样本(图 3A)。热图分析同样表明上述免疫相关细胞在正常组与 TOF 组之间存在显著分布差异(图 3B)。

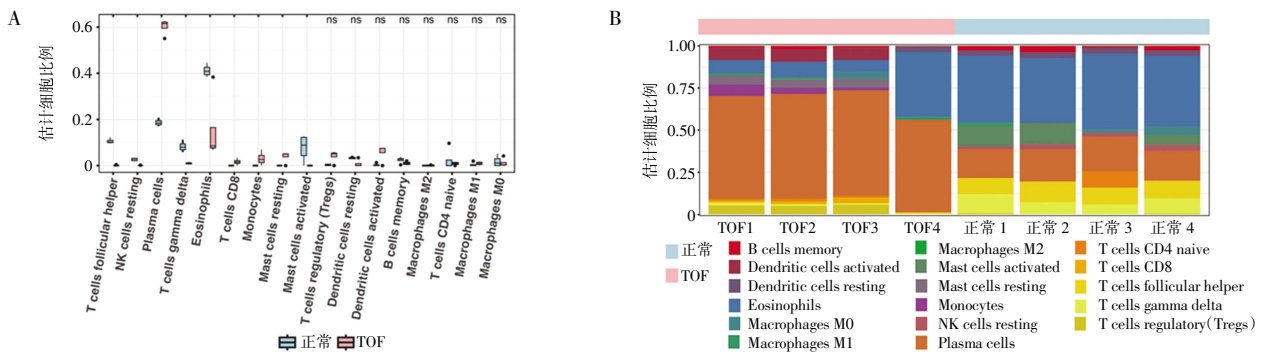
2.4 可信度高关键的免疫基因与 miRNA 筛选 从 MSigDB 数据库下载得到 200 个免疫相关基因 (IRGs)。利用 miRWalk 数据库对 DE miRNAs 进行靶基因预测,共获得 13 527 个靶基因。将 200 个免疫相关基因与 DE miRNAs 的靶基因以及先前筛选出的 1 875 个 DEGs 进行交集分析,得到 28 个与免疫调控相关的基因(图 4A)。鉴于 miRNA 通常通过负向调控基因表达,从中筛选出 20 个具有负调控



注:A:显著上调基因的 GO 功能富集;B:显著上调基因的 KEGG 通路富集;C:显著下调基因的 GO 功能富集;D:显著下调基因的 KEGG 通路富集

图 2 差异表达基因的富集分析

Fig.2 Enrichment analysis of differentially expressed genes



注:TOF:法洛四联症;A:基于差异基因的免疫细胞类型箱式图,横轴为细胞类型,纵轴为细胞比例,\*表示差异显著,ns表示无统计学差异;B:基于差异基因的免疫细胞类型热图,横轴为不同样本,纵轴为估计细胞比例,不同颜色表示不同细胞类型

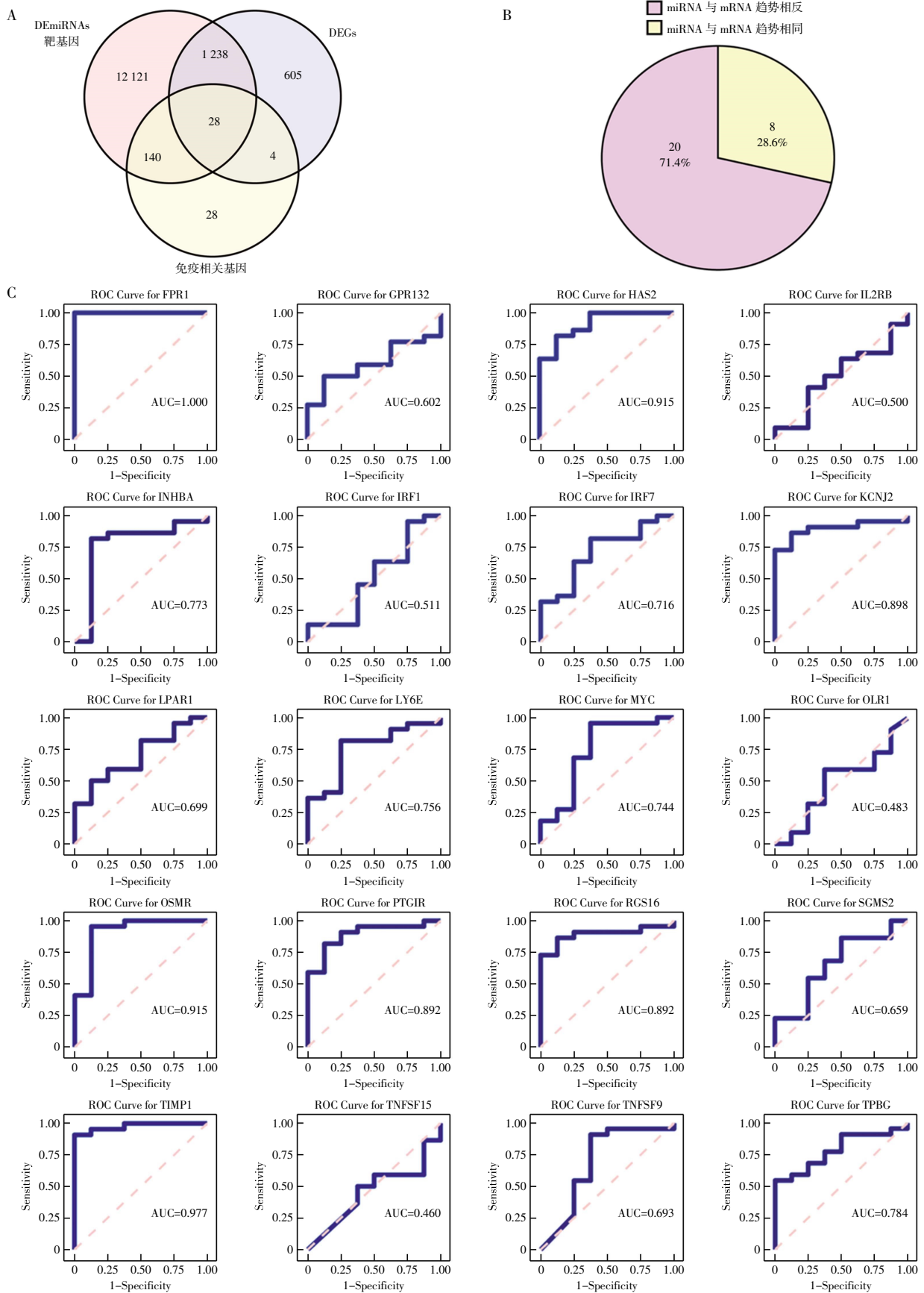
图 3 免疫细胞亚型比例分析

Fig.3 Immune cell subtype proportions analysis

关系的 miRNA-mRNA 对用于后续验证(图 4B)。使用外部数据集验证得到 16 个基因的 AUC 评分超过 0.6,表明这些基因在区分疾病组与正常组样本方面具有潜在诊断价值。最终筛选出这 16 个基因作为受 miRNA 调控的关键免疫基因,与其具备调控关系的 16 个 miRNA 作为关键 miRNA。

2.5 免疫相关的 TF-miRNA-mRNA 调控网络构建

分析结果表明,LPAR1 与 GPR132、RGS16 之间存在显著的互作关系(图 5A)。使用 TransmiR 数据库进一步预测发现在心脏特异性组织中,hsa-miR-4284 可能受 JUN、JUND、TAL1 和 ERG 这 4 个转录因子的调控。并构建了一个包含 36 个节点(node)和 32 条边(edge)的免疫相关 TF-miRNA-mRNA 调控网络(图 5B)。基于关键基因与关键 miRNA 的互作关



注:DEGs:差异表达基因;ROC:受试者工作特征;A:将免疫相关基因、差异 miRNA 靶基因与差异表达基因取交集得到 28 个基因的韦恩图;B:28 个基因中有 20 个基因的 miRNA 与基因表达呈现负调控状态的饼图;C:基于外部验证集对 20 个基因作 ROC 曲线图

图 4 可信度高的免疫基因的筛选以及外部基因表达数据集验证

Fig.4 Screening of high-confidence immune genes and validation using external gene datasets

系, 利用 MCC 算法评分筛选出了 4 个核心基因: LPAR1、OSMR、RGS16 和 SGMS2 及 5 个核心 miRNA: hsa-miR-483-5p、hsa-miR-483-3p、hsa-miR-185-5p、hsa-miR-185-3p 和 hsa-miR-4485-3p(图 5C)。

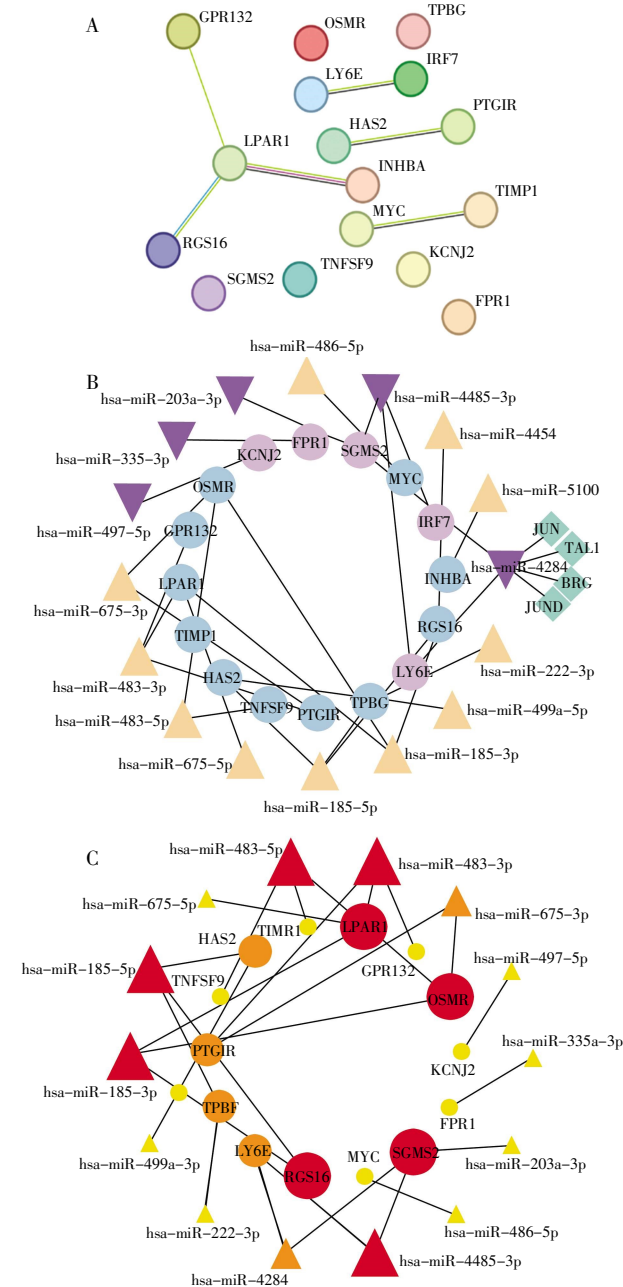
### 3 讨论

TOF 是最常见的先天性心脏病之一, 目前, TOF 的治疗主要依靠手术干预, 但手术治疗无法显著改善心肌的病理状态。因此, 深入研究 TOF 的免疫调控机制及其关键调控因子, 对于延缓疾病进展、开发辅助治疗策略具有重要意义。

本研究对 mRNA 表达数据进行差异分析, 对上调与下调的 DEGs 分别进行 GO 与 KEGG 功能富集。其中显著上调的 DEGs 主要富集于抗微生物体液反应与对 I 型干扰素的反应等相关生物过程以及中性粒细胞胞外陷阱形成等通路, 这反映了在 TOF 中存在先天性免疫的过度激活, 揭示了 TOF 患者粒细胞异常活化状态, 将进一步加剧心脏损伤; 显著下调的 DEGs 功能主要富集在 CD4<sup>+</sup>T 细胞、 $\alpha$ - $\beta$ T 细胞分化等生物学过程, 通路主要富集于 PI3K-Akt 信号通路、Wnt 信号通路。CD4<sup>+</sup>T 细胞、 $\alpha$ - $\beta$ T 细胞分化功能的富集提示后天性免疫的失衡, 而 PI3K-Akt 信号通路、Wnt 信号通路在细胞生长、凋亡和分化中具有关键作用, 该通路表达的下调会削弱心肌修复能力, 促进免疫纤维化微环境的形成。综上, DEGs 的免疫相关的功能富集结果揭示 TOF 患者存在明显的免疫相关异常, 表现为先天免疫过度激活与获得性免疫失衡共存, 可能共同参与 TOF 的发生与进展。

为了进一步探究 TOF 的免疫特征, 本研究进行了免疫浸润分析。结果表明 TOF 中存在显著的免疫细胞成分改变, 多种免疫细胞比例发生显著变化, 免疫炎症也会进一步影响疾病进程。因此, 在 TOF 的研究中, 探究免疫基因的上游调控关系是非常有必要的。

尽管大量研究集中于转录因子对 mRNA 的调控作用, 但 TF 同样可能调控 miRNA 的表达。为了建立更为全面的调控网络, 本研究通过系统生物信息分析整合了 TOF 相关的 mRNA 与 miRNA 的同时, 预测了 TF 对于关键 miRNA 的调控作用, 成功建立了免疫相关的 TF-miRNA-mRNA 调控网络, 筛选得到了 4 个核心基因: LPAR1、OSMR、RGS16 和 SGMS2 与 5 个核心 miRNA: hsa-miR-483-5p、hsa-miR-483-3p、hsa-miR-185-5p、hsa-miR-185-3p 和 hsa-miR-4485-3p。在 5 个核心 miRNA 中, hsa-miR-483-5p 已经在心脏组织中被证实对心脏相关疾病进展通路有重要的调节作用。研究表明, hsa-miR-483-5p 能够调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)的表达。MAPKs 往往调节细胞的增殖、分化和应激反应, 是一组信号蛋白<sup>[20]</sup>, 主要由 4 个亚家族组成。其中 MAPK3 也被称为 ERK1<sup>[21]</sup>。MAPK3 可以作为调节因



注: A: 16 个关键免疫基因的蛋白质相互作用调控网络; B: 免疫相关的 TF-miRNA-mRNA 调控网络, 圆形表示关键基因, 其中紫色圆圈表示基因表达上调部分, 蓝色圆圈表示基因表达下调部分; 三角形表示关键 miRNA, 其中黄色三角形表示表达上调 miRNA, 紫色三角形表示表达下调 miRNA; 菱形表示调控 miRNA 的转录因子; C: 经过 CytoHubba 分析得到的关键免疫基因与关键 miRNA 网络, 其中颜色越深、图形面积越大代表 MCC 评分越高, 图中呈深红色的圆形为核心基因, 呈深红色的 5 个三角形为核心 miRNA

图 5 PPI 调控网络以及免疫相关的 TF-miRNA-mRNA 调控网络的构建

Fig.5 Construction of the PPI regulatory network and the immune-related TF-miRNA-mRNA regulatory network

素,应对各种信号级联,如炎症、细胞增殖、分化、运动、生存和新陈代谢<sup>[22]</sup>。已有相关研究显示, ERK1/2 与缺血-再灌注损伤有关<sup>[23-24]</sup>, MAPK3 的上调可以减少缺血-再灌注引起的心肌细胞凋亡<sup>[25]</sup>。此外,该研究表明 hsa-miR-483-5p 还与心脏炎症等强相关。提示 hsa-miR-483-5p 在心脏中具有重要的调节作用,通过调控 MAPKs 通路影响心肌细胞的凋亡。在 4 个核心免疫基因中,OSMR 的缺失已被证实可导致心肌肥大,心肌纤维化重塑<sup>[22]</sup>。本研究中, hsa-miR-483-5p 可能能够调控 OSMR 的表达, OSMR 不仅为本研究中筛选得到的核心基因,也是 hsa-miR-483-5p 的靶向调控基因。因此推测 hsa-miR-483-5p 在 TOF 中不仅调控 MAPKs 通路影响心肌细胞凋亡,同时调控 OSMR 的表达促进心肌纤维化进展。

已有的实验研究为本研究的结果提供了实验证据,也在一定程度上支持了本研究的可靠性,对于其他核心基因与核心 miRNA,本研究也提供了理论基础,后续可以通过基因敲除实验,在细胞或动物模型中验证核心基因与核心 miRNA 的功能及其相互作用。这些功能实验将有助于明确核心 miRNA 与免疫相关的核心基因在 TOF 中的具体作用,为后续开发靶向治疗策略提供依据。

#### 参考文献:

- [1] VAN DER LINDE D, KONINGS E E, SLAGER M A, et al. Birth prevalence of congenital heart disease worldwide: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 58(21): 2241-2247.
- [2] STEFANOVIĆ S, ETCHEVERS H C, ZAFFRAN S. Outflow tract formation-embryonic origins of conotruncal congenital heart disease [J]. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2021, 8(4): 42.
- [3] AVESANI M, JALAL Z, FRIEDBERG M K, et al. Adverse remodeling in tetralogy of Fallot: from risk factors to imaging analysis and future perspectives[J]. *Hellenic J Cardiol*, 2024, 75: 48-59.
- [4] PRABHU S D, FRANGOIANNIS N G. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: from inflammation to fibrosis[J]. *Circ Res*, 2016, 119(1): 91-112.
- [5] WIENECKE L M, COHEN S, BAUERSACHS J, et al. Immunity and inflammation: the neglected key players in congenital heart disease[J]. *Heart Fail Rev*, 2022, 27(5): 1957-1971.
- [6] QING M, SCHUMACHER K, HEISE R, et al. Intramyocardial synthesis of pro- and anti-inflammatory cytokines in infants with congenital cardiac defects[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41(12): 2266-2274.
- [7] DU J, LIU H, WANG P, et al. Identification and analysis of inflammation-related biomarkers in tetralogy of Fallot[J]. *Transl Pediatr*, 2024, 13(7): 1033-1050.
- [8] GAO J, XU W, WANG J, et al. The role and molecular mechanism of non-coding RNAs in pathological cardiac remodeling[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 608.
- [9] BITTEL D C, KIBIRYEVA N, MARSHALL J A, et al. MicroRNA-421 dysregulation is associated with tetralogy of Fallot[J]. *Cells*, 2014, 3(3): 713-723.
- [10] IVEY K N, MUTH A, ARNOLD J, et al. MicroRNA regulation of cell lineages in mouse and human embryonic stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 2(3): 219-229.
- [11] LIANG D, XU X, DENG F, et al. miRNA-940 reduction contributes to human Tetralogy of Fallot development[J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(9): 1830-1839.
- [12] ZHANG Z, HUANG Q, YU L, et al. The role of miRNA in tumor immune escape and miRNA-based therapeutic strategies[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 807895.
- [13] HAN L, CHEN S, LUAN Z, et al. Immune function of colon cancer associated miRNA and target genes[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1203070.
- [14] HOLLA S, BALAJI K N. Epigenetics and miRNA during bacteria-induced host immune responses[J]. *Epigenomics*, 2015, 7(7): 1197-1212.
- [15] FORMAN J, BEECH R, SLUGANTZ L, et al. A review of tetralogy of fallot and postoperative management[J]. *Crit Care Nurs Clin North Am*, 2019, 31(3): 315-328.
- [16] HO P T B, CLARK I M, LE L T T. MicroRNA-based diagnosis and therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 7167.
- [17] NEWMAN A M, LIU C L, GREEN M R, et al. Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles[J]. *Nat Methods*, 2015, 12(5): 453-457.
- [18] STICHT C, DE LA TORRE C, PARVEEN A, et al. miRWalk: an online resource for prediction of microRNA binding sites[J]. *PLoS One*, 2018, 13(10): e0206239.
- [19] SZKLARCZYK D, KIRSCH R, KOUTROULI M, et al. The STRING database in 2023: protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest[J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1): D638-D646.
- [20] FLORES K, YADAV S S, KATZ A A, et al. The nuclear translocation of mitogen-activated protein kinases: molecular mechanisms and use as novel therapeutic target[J]. *Neuroendocrinology*, 2019, 108(2): 121-131.
- [21] MAIK-RACHLINE G, WORTZEL I, SEGER R. Alternative splicing of MAPKs in the regulation of signaling specificity[J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3466.
- [22] FENG Y, YUAN Y, XIA H, et al. OSMR deficiency aggravates pressure overload-induced cardiac hypertrophy by modulating macrophages and OSM/LIFR/STAT3 signalling[J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 290.
- [23] LI X, XIE Z, ZHOU Q, et al. TGN-020 alleviate inflammation and apoptosis after cerebral ischemia-reperfusion injury in mice through glymphatic and ERK1/2 signaling pathway[J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(2): 1175-1186.
- [24] WANG W Y, XIE L, ZOU X S, et al. Inhibition of extracellular signal-regulated kinase/calpain-2 pathway reduces neuroinflammation and necroptosis after cerebral ischemia-reperfusion injury in a rat model of cardiac arrest[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 93: 107377.
- [25] WANG H, PANG W, XU X, et al. Cryptotanshinone attenuates ischemia/reperfusion-induced apoptosis in myocardium by upregulating MAPK3[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2021, 77(3): 370-377.